

Fisiopatología del daño por isquemia-reperfusión en el síndrome de la torsión-dilatación gástrica

Este artículo revisa las últimas aportaciones sobre el estrés oxidativo, con mención más detallada para el síndrome de torsión-dilatación gástrica como ejemplo del fenómeno de isquemia-reperfusión. Partiendo de los aspectos fisiopatológicos y sus repercusiones, se abordan finalmente las posibilidades que tenemos para manejar el estrés oxidativo y reducir así sus posibles consecuencias.

Palabras clave: Isquemia. Reperfusión. Radicales. Oxidativo. Torsión-dilatación gástrica.
Rev. AVEPA, 23(2): 89-96, 2003

Introducción

* V. Sorribas, ** M. Gascón.

Profesor Titular de Toxicología*
y Patología Médica**
Facultad de Veterinaria
C/. Miguel Servet, n.º 177
25013 Zaragoza



El tratamiento del síndrome conocido como torsión-dilatación gástrica se ha centrado clásicamente en la corrección del *shock* y de la acidosis metabólica, así como en la rápida restauración del flujo sanguíneo. Aunque esta última maniobra continúa siendo el requisito para la supervivencia del tejido isquémico, hay que reconocer que no está exenta de efectos secundarios, como es la generación iatrogénica de un grave estrés oxidativo provocado por el fenómeno conocido como isquemia-reperfusión.

Hasta mediados de los años ochenta, las lesiones tisulares generadas por el fallo del flujo sanguíneo se consideraban debidas a una combinación de falta de oxígeno y acidosis metabólica¹, pero progresivamente se ha ido comprobando que en el periodo postisquémico, es decir, tras la reperfusión del tejido infartado, se generan cambios responsables de buena parte de las consecuencias adversas de la isquemia². Dogmas como el de la acidosis metabólica han ido sustituyéndose por nuevos conceptos como el del daño oxidativo e inflamatorio, fenómenos universales con gravísimas consecuencias en la isquemia cerebral y cardíaca, pero también importantes en el caso del hígado, páncreas, aparato digestivo, riñón, etc., y en procedimientos médicos y quirúrgicos habituales como transplantes de órganos, angioplastia coronaria o el *bypass* cardiopulmonar.

En este artículo pretendemos acercar al clínico veterinario de animales de compañía los avances más recientes en la materia, tanto en investigación fisiopatológica como en terapéutica, para que puedan ser tenidos en cuenta ante procesos isquémicos en general y de la torsión-dilatación de estómago en particular.

El síndrome de torsión-dilatación de estómago

Este síndrome es un proceso frecuentemente mortal que afecta especialmente a perros grandes de tórax profundo y edad avanzada, aunque también se han descrito casos en razas pequeñas, como el pequinés, y en gatos³⁻⁵. La etiología de este síndrome no es del todo conocida, pero como causas más frecuentes o factores predisponentes se han descrito la ingestión de grandes cantidades de alimentos o agua seguida de un ejercicio intenso^{6,7}, situaciones de estrés, la aparición de disritmias gástricas, disfunción pilórica, aerofagia excesiva, el consumo de dietas ricas en cereales o soja⁸, así como el tamaño de las partículas de alimento⁹ o la longitud del ligamento hepatogástrico¹⁰.

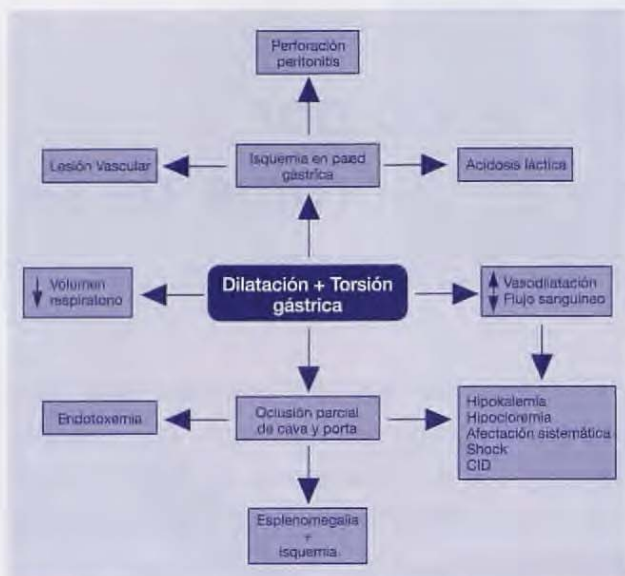


Figura 1. Principales características de la fisiopatología de la torsión-dilatación gástrica.

Como factor adicional de gravedad no hay que olvidar la frecuente recurrencia de este síndrome¹¹.

El desarrollo fisiopatológico es muy complejo, y queda resumido en la figura 1.

Comienza con una simple dilatación del estómago asociada a acúmulo de gas o líquido en el mismo, debido a que tanto la entrada como la salida del estómago quedan cerradas: el esófago distal se cierra por la rotación del estómago, mientras que el duodeno se colapsa por la compresión del estómago. Una de las principales consecuencias de la rotación de estómago es la lesión vascular "irreversible" de la pared del estómago¹², que se inicia por la alta presión transmural, congestión, estasis venoso y anoxia local. La rotación del estómago también ocluye parcialmente las venas cava caudal y porta, y los vasos esplénicos por desplazamiento pasivo del bazo, que pueden provocar esplenomegalia e isquemia. La oclusión de la vena porta puede originar endotoxemia por bacterias Gram-negativas, lo que agrava el shock. Además, hay disminución del volumen respiratorio y de la cantidad y velocidad del flujo sanguíneo a los pulmones, así como un incremento en la viscosidad sanguínea, todo ello pudiendo llegar a producir coagulación intravascular diseminada, shock hipovolémico, hipokalemia e hipocloremia⁸. Las alteraciones circulatorias afectan a la función de muchos otros órganos, y en especial al intestino, riñones, páncreas y miocardio, lo que se refleja en la aparición de anomalías bioquímicas y hemostáticas¹³. La concentración plasmática de lactato se incrementa considerablemente en casos de necrosis gástrica, lo que se ha propuesto como posible indicador del pronóstico del proceso¹⁴.

Las lesiones más importantes ocurren en la curvatura mayor y en el fundus, en la cercanía de los vasos gástricos cortos¹⁵. Áreas serosas de color negro a verdusco suelen indicar muerte de los tejidos de la pared gástrica, mientras que zonas rojo oscuro, púrpura o hemorrágicas indican lesiones impor-

tantes, aunque menos graves que las anteriores. A pesar de que la fluoresceína ha sido propuesta para la valoración de la viabilidad del tejido¹², la información que proporciona es poco objetiva y puede inducir a errores importantes¹⁵.

El tratamiento clásico es de varios tipos, y está dirigido a evitar o corregir el choque hipovolémico (fluidoterapia), profilaxis del choque endotóxico (antibioterapia), de los desequilibrios ácido-base y electrolíticos, y por supuesto, la manipulación gástrica que incluye el sondaje orogástrico y el tratamiento quirúrgico transitorio (gastrostomía) o definitivo^{4,16-18}. El tratamiento farmacológico suele incluir además, antieméticos, corticoides y la corrección de las arritmias. Como tratamientos especiales para la reposición del flujo sanguíneo se han utilizado la denervación simpática¹⁹, histamina²⁰, y alimentación forzada²¹. Otros tratamientos, muchos de ellos meramente experimentales, dirigidos al mantenimiento de la integridad de la pared gástrica, han incluido el uso de prostaglandinas, acetilcolina, polipéptido intestinal vasoactivo, bradiquinina, serotonina y catecolaminas²². El tratamiento postoperatorio es igualmente muy importante, ya que las muertes suelen ocurrir dentro de los cuatro primeros días¹⁵. Clásicamente ha consistido en fluidoterapia poli-iónica para el mantenimiento de la homeostasis electrolítica y del estado ácido-base.

Sin embargo, como hemos indicado al inicio de nuestra introducción, el tratamiento específico del daño tisular provocado por la reperfusión ha tenido todavía poca repercusión en medicina veterinaria, por lo que las posibilidades de desarrollo terapéutico son amplias. No obstante, hay que advertir que la terapia de la isquemia-reperfusión se encuentra todavía en fases experimentales, tanto en medicina humana como veterinaria, por lo que los diferentes tratamientos deben ser considerados con las debidas precauciones.

Fisiopatología de la reperfusión

Aunque el daño por reperfusión en la célula parenquimatosa no está claro del todo, sí que hay un gran consenso sobre la afectación de la **microvasculatura**, y en concreto, sobre las células endoteliales que recubren los vasos microscópicos: arteriolas, capilares y sobre todo, vénulas²³. Mientras que las lesiones en las células parenquimatosas ocurren sólo en periodos muy largos de isquemia y reperfusión, las células endoteliales sufren cambios bioquímicos y moleculares importantes en la pared vascular, desde los primeros momentos de la reperfusión e incluso tras periodos cortos de isquemia²⁴. Esos cambios son característicos de una respuesta inflamatoria aguda, que puede llegar a ser tan intensa como para producir alteraciones en órganos distantes, y dar lugar a dos síndromes bien conocidos en medicina humana: el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) o el de disfunción múltiple de órganos (SDMO). Tanto en las células parenquimatosas como en las endoteliales, las lesiones pueden llegar a ser tan importantes como para producir la muerte celular. Ésta puede ocurrir bien por necrosis (muerte pasiva de la célula, que queda a merced del agente agresor) o por apoptosis

(suicidio celular provocado por la activación ordenada de una cascada de proteasas y endonucleasas intracelulares). El grado de participación de cada uno de estos dos tipos de muerte en la isquemia/reperfusión está aún por determinar, aunque el segundo tipo parece ser más frecuente en las células endoteliales²⁵. La comprobación y cuantificación de este fenómeno es de gran importancia porque la muerte apoptótica puede ser ya controlada y evitada farmacológicamente, mediante, por ejemplo, el uso de algunos factores de crecimiento.

Durante el periodo isquémico (hipóxico) las células endoteliales sufren alteraciones en el potencial de membrana y en la distribución de iones, se incrementa el volumen intracelular, la membrana pierde fluidez, y se desorganiza el citoesqueleto (Fig. 2). Al mismo tiempo se agotan las reservas energéticas, disminuye la producción de algunos agentes bioactivos como la prostaciclina o el óxido nítrico (NO), y se incrementa la de otros como la endotelina o el tromboxano A₂²³. Algunos genes se inducen, en especial los mediadores de la inflamación como las moléculas de adhesión celular endotelial (ECAM) e intercelular (ICAM-1) y citoquinas, mientras que otros se inhiben, como la NO sintetasa o la trombomodulina²⁶. En la fase postisquémica, es decir, con la reperfusión, muchos de estos cambios se exageran, aunque los cambios morfológicos tardan en aparecer²⁷. Éstos sólo se hacen evidentes tras una isquemia prolongada, y consisten en edema celular, separación de las células endoteliales de sus membranas basales, y adhesión de leucocitos activados, especialmente neutrófilos, a la superficie de las células endoteliales²⁸. A una escala bioquímica la reperfusión induce un incremento en la producción de metabolitos oxigenados reactivos (radicales libres y derivados) y una disminución en la de NO, con pésimas implicaciones para el tejido.

La principal consecuencia funcional de la reperfusión en las **arteriolas** es un fracaso en la relajación mediada por NO de la musculatura lisa²⁹. Parece que esta incapacidad se debe a una inactivación del NO por el radical superóxido (véase más adelante), que se produce en grandes cantidades por los leucocitos activados y adheridos; esta incapacidad puede ser superada experimentalmente mediante el uso de antioxidantes. En cuanto a los **capilares**, las principales alteraciones durante la reperfusión consisten en un incremento de la filtración de líquido hacia el intersticio debida a una mayor conductividad hidráulica, y una reducción en el número de capilares perfundidos como consecuencia de una disminución de la luz capilar provocada por una combinación de edema de las células capilares, de la presión de los leucocitos adheridos con o sin plaquetas, y del acúmulo de líquido intersticial^{23,30}.

Sin embargo, la mayor parte de las disfunciones de origen inflamatorio tienen lugar en las **vénuas**. Su respuesta a la reperfusión se caracteriza principalmente por adhesiones de leucocitos al endotelio y su migración transendotelial, agregación de plaquetas-leucocitos, activación de mastocitos y macrófagos, extravasación de albúmina, y sobre todo, superproducción de moléculas oxidantes. La gran proliferación de

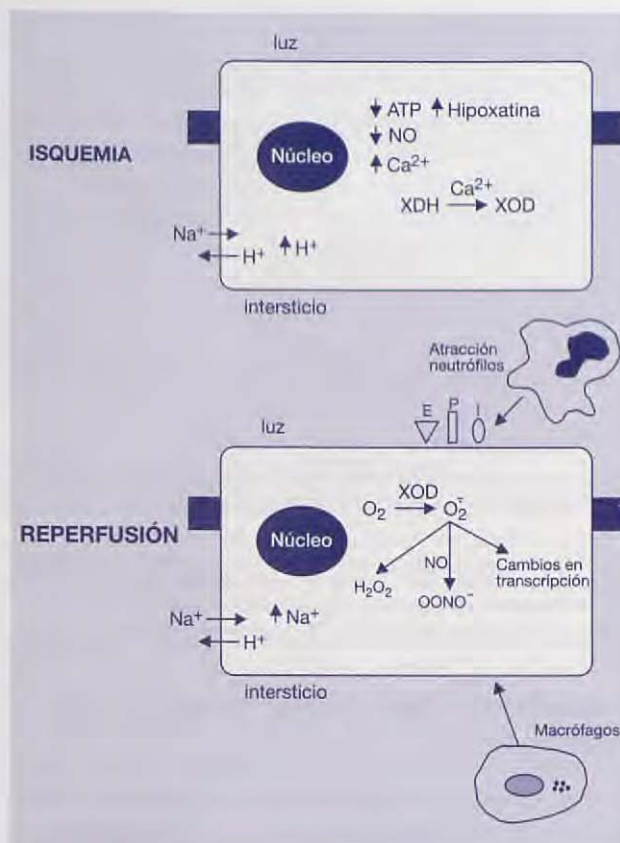


Figura 2. Durante la reperfusión, los cambios ocurridos con la isquemia se exageran, destacando la generación de moléculas oxidantes y la respuesta inflamatoria. E, E-selectina; P, P-selectina; I, ICAM-1; NO, óxido nítrico; OONO⁻, peroxinitrito; XDH, xantina deshidrogenasa; XOD, xantina oxidasa.

leucocitos tiene como origen la síntesis de moléculas de adhesión en las células endoteliales, especialmente la selectina P y la molécula de adhesión intercelular o ICAM-1³¹. La superproducción de oxidantes tiene su razón en un origen doble: las células endoteliales y los leucocitos³². Las primeras generan radicales tras los primeros minutos de la reperfusión, mientras que los leucocitos adherentes lo hacen posteriormente. Esta producción tiene su origen principal en la enzima xantina oxidasa, que durante la hipoxia ha cambiado su función de xantina deshidrogenasa NAD-reductora (es decir, que cede electrones al NAD⁺) a xantina oxidasa O₂ reductora (es decir, que cede electrones al oxígeno molecular). Durante la isquemia, el consumo y agotamiento de los niveles de ATP provoca la acumulación de catabolitos de las purinas, como la hipoxantina y xantina. Con la reperfusión e influjo de O₂, la xantina oxidasa metabolizará rápidamente esos catabolitos a la vez que reduce el O₂, provocando así la hiperproducción de radical superóxido y su derivado, el peróxido de hidrógeno. El descenso en ATP también provocará el incremento en la concentración intracelular libre de calcio y hierro (por movilización de ferritina tras los cambios en el potencial de membrana), que participará activamente en la formación de nuevos radicales libres (véase más adelante) y en la activación Ca-dependiente de proteasas que van a convertir la xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa³³.

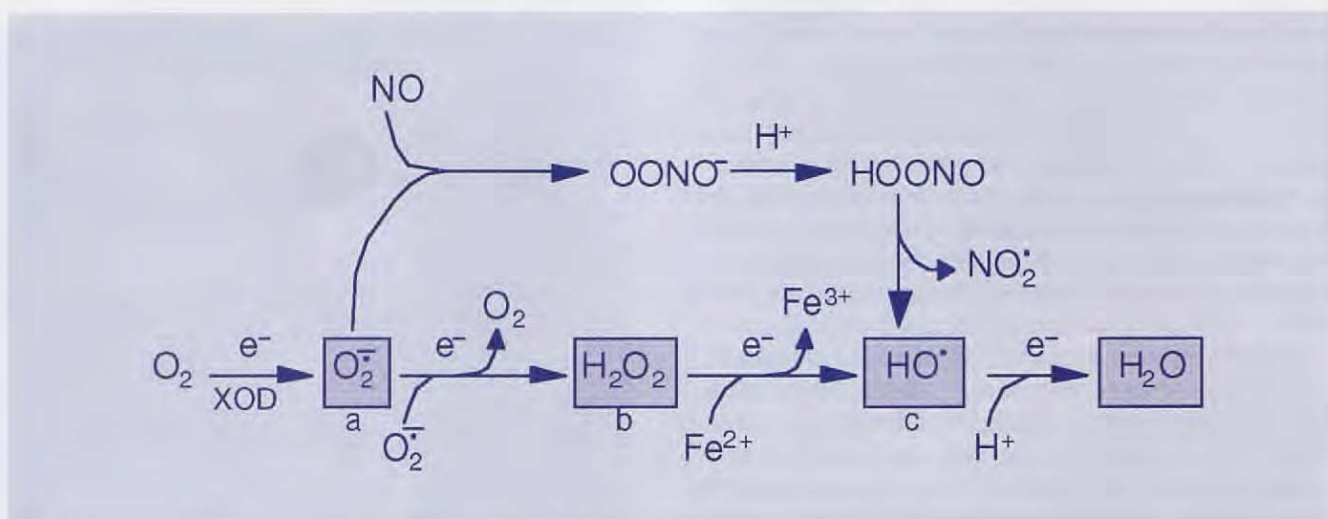


Figura 3. Esquema simplificado de las moléculas oxidativas que participan en la reperusión. La cascada de reacciones comienza con la reducción univalente del oxígeno molecular por parte de la xantina oxidasa, generando el radical superóxido (a). Sucesivas reducciones producirán el peróxido de hidrógeno (b), radical hidroxilo (c) y, finalmente, agua. El electrón desemparejado de los radicales se denota con un punto en índice. Se ha señalado también la interacción entre el radical superóxido y óxido nítrico, porque además de agotar éste, la reacción termina también generando radical hidroxilo.

Importancia del estrés oxidativo en la reperusión

Por estrés oxidativo entendemos la situación celular en la que el equilibrio oxidación-reducción de sus moléculas está desplazado hacia la izquierda. En diversas situaciones patológicas, como es la reperusión, el estado oxidativo se debe a una sobreproducción de moléculas oxidantes, que son derivadas del oxígeno molecular³⁴. Éste puede sufrir cuatro reducciones consecutivas (aceptación de electrones) hasta su conversión en agua, como ocurre con la respiración aeróbica mitocondrial. Pero en condiciones no fisiológicas esta cadena de reducciones puede detenerse en cualquiera de ellas, y originar las denominadas moléculas oxigenadas reactivas, responsables del estrés oxidativo (Fig. 3). Cuando el oxígeno molecular recibe un único electrón, el anión resultante es un radical libre porque ahora contiene un electrón desemparejado en su orbital más externo que le induce una cierta inestabilidad (reactividad), denominándose radical superóxido. Mediante una segunda reducción, llamada dismutación, se origina peróxido de hidrógeno que, aunque ya no es un radical, posee una gran capacidad de difusión por la célula y facilidad de interacción con metales de transición reducidos, como el Fe^{2+} (que se ha incrementado durante la isquemia) o el Cu^+ . Durante esta reacción el oxígeno molecular sufre una tercera reducción univalente y el H_2O_2 se descompone originando el radical oxigenado más reactivo y potente de todos, el radical hidroxilo. La interacción de estas moléculas reactivas con otras moléculas celulares provocará la formación de otros radicales, de mayor o menor reactividad. El estrés oxidativo va a producir, directa o indirectamente, un incremento en la peroxidación de lípidos de membranas celulares, oxidación e inactivación de proteínas, e incluso la generación de mutaciones y rotura de cromosomas³⁵. Por otra parte, el estrés oxidativo activa algunos factores de transcripción (receptores nucleares), que participan en la respuesta inflamatoria y

la muerte celular apoptótica, como el NF- κ B, AP-1, MAP-kinasas, JNK y p38; estas activaciones tienen también lugar durante la isquemia-reperusión^{36,37}, de modo que si la capacidad de los mecanismos antioxidantes se ve superada, la célula verá seriamente comprometida su funcionalidad normal e incluso su viabilidad.

En el caso concreto de la isquemia-reperusión, las investigaciones apuntan al radical superóxido y al hierro como los responsables principales y originales de las alteraciones generadas por la isquemia-reperusión. Por un lado, una consecuencia importante de la superproducción de radical superóxido es la aparición de un desequilibrio óxido nítrico - radical superóxido, que provocaría las disfunciones más llamativas del sistema microvascular (deficiente vasodilatación y la respuesta inflamatoria aguda)³⁸. En situaciones normales la cantidad de NO excede a la producción de superóxido, por lo que el primero contribuiría a la neutralización de los bajos niveles del segundo, y mantendría reducido el tono arteriolar, entre otras funciones. Pero tras pocos minutos de la reperusión este equilibrio se rompe por la mencionada superproducción de radical superóxido, y por una menor síntesis de NO tras inhibición de la NO sintetasa endotelial³⁹. Es ahora el primero el que consigue anular los bajos niveles de NO por la reacción entre ambos, para formar el radical peroxinitrito. Con ello, las dos funciones principales del óxido nítrico, de bloqueo de las interacciones entre células sanguíneas y endoteliales, y las de segundo mensajero de la vasodilatación mediada por receptores de acetilcolina, quedan seriamente comprometidas.

Además, como el radical superóxido es el generador de la cascada de moléculas oxigenadas reactivas ya mencionadas, el daño oxidativo directo generado en las macromoléculas de las células endoteliales y parenquimatosas puede llegar a ser enorme. Los oxidantes también participan, como hemos indicado, en la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales. Esto es debido, en concreto, a la generación de radical hidroxilo a partir de peróxido de hidrógeno y Fe^{2+} , que indu-

ce la expresión de las moléculas de adhesión (CAMs, selectinas, etc.) en la membrana endotelial. Finalmente, el estrés oxidativo también estimula la respuesta inflamatoria, y se incrementa la producción del factor de activación plaquetario, de la activación y depósito del complemento y el acúmulo de selectinas (P, E y L) en la superficie endotelial para la atracción de más leucocitos. Estas dos últimas actividades (producción de moléculas de adhesión leucocitaria y estímulo directo de la inflamación) van a asegurar el mantenimiento de la respuesta inflamatoria durante varias horas^{23,36}. Finalmente, los leucocitos adheridos van a liberar también grandes cantidades de oxidantes al medio extracelular, de modo que aunque éste es uno de sus principales mecanismos de acción inmunitaria, consigue agravar el proceso oxidativo-inflamatorio.

Manejo del daño por reperfusión en la torsión de estómago

La lesión vascular que ocurre durante la torsión de estómago es conocida desde hace años, y es consecuencia, al menos en buena parte, de la isquemia que tiene lugar en la pared del estómago¹². A su vez, las múltiples complicaciones que tienen lugar en otros órganos pueden tener un origen similar a los descritos en la especie humana, SRIS y SDMO. Por lo tanto, la torsión de estómago supone, probablemente, un buen ejemplo del proceso patológico de isquemia/reperfusión digestiva, en el que el daño oxidativo-inflamatorio sería responsable de buena parte de las manifestaciones observadas. Lamentablemente, y a pesar de los grandes avances realizados en los últimos años, no existe un protocolo de tratamiento sistemático para la prevención del daño por reperfusión, aunque se han utilizado diversos productos con cierto éxito. Recientemente ha sido publicada una revisión de la situación actual de la terapia de la isquemia-reperfusión³⁷.

Las terapias iniciales fueron encaminadas a evitar el daño oxidativo directamente, actuando sobre los radicales libres responsables del mismo. Sin embargo, muchos resultados han sido contradictorios, y no válidos en todos los modelos animales de experimentación³⁷. Clásicamente se han utilizado los **atrapadores de radicales** (*spin traps*), naturales como la vitamina E y el glutatión, o artificiales como el N-óxido de 5,5-dimetil-1-pirrolina (**DMPO**) y el N-*tert*-butil- α -fenilnitrona (**PBN**). Estos dos últimos compuestos son moléculas orgánicas diamagnéticas que contienen, como partes funcionales, grupos nitroso ($-N=O$) o nitrona ($>C=N\rightarrow O$). Estos grupos reaccionan con los radicales formados (el radical hidroxilo, superóxido, hidroperóxido...) para formar un compuesto nitróxido más estable y, por lo tanto, menos reactivo frente a las macromoléculas celulares⁴⁰. Debido a sus potentes efectos farmacológicos estos compuestos también poseen algunos efectos tóxicos, aunque sólo a dosis muy elevadas. Mientras que el DMPO es más hidrosoluble y sólo inactiva el radical hidroxilo extracelular, la mayor liposolubilidad del PBN le permite destruir también los radicales intracelulares, y de ahí su mayor efectividad y recomendación. No obstante, y a pesar

de que el PBN ha sido estudiado en gran detalle en la isquemia cerebral y cardíaca, su efectividad en el aparato digestivo está aún por determinar. Además, estos compuestos no se comercializan como fármacos, y por lo tanto su uso clínico debería ser a partir de fórmulas magistrales.

El **tocopherol** es el antioxidante natural más abundante en las membranas celulares debido a su liposolubilidad, y también ha mostrado reducir (aunque no evitar) el daño por reperfusión en varios tejidos³⁴. Un análogo de la vitamina E, el IRFI-042 está probándose clínicamente en la actualidad, y parece tener resultados mejores que el tocoferol. Recientemente, las investigaciones se han centrado en el **glutathione**, presente en gran concentración en el interior de las células, pero a muy baja en el plasma sanguíneo ($10 \mu M$)⁴¹. El glutathione es un péptido de tres aminoácidos, con una cisteína central, y el grupo tiol de ésta se comporta como antioxidante y nucleófilo (reacciona frente a metabolitos tóxicos electrofílicos). Además de radicales libres también neutraliza otros compuestos que intervienen en el daño por reperfusión, como el peróxido de hidrógeno y ácido hipocloroso liberados por los leucocitos. En condiciones normales su efectividad es pequeña debido a su baja concentración sanguínea, pero su administración ha mostrado gran efectividad en la reperfusión hepática. También puede utilizarse la **acetilcisteína**, precursora del glutathione y que también se comporta como un poderoso antioxidante, inhibiendo además la acumulación de xantina oxidasa. De todos modos, los resultados clínicos con antioxidantes no han sido espectaculares, probablemente porque el uso de un solo compuesto no debe ser suficiente para contrarrestar un ataque oxidativo multifactorial.

Un antioxidante muy interesante que puede ser utilizado fácilmente en los casos de torsión-dilatación es el anestésico **propofol**, aprovechando la narcosis a que deben ser sometidos estos animales. El propofol se ha utilizado con bastante éxito en isquemia-reperfusión experimental del corazón de rata, evitando el incremento en la permeabilidad de la membrana mitocondrial y mejorando la recuperación de la función cardíaca⁴². Una estrategia que también se ha desarrollado con bastante éxito es la de inhibir la actividad pro-oxidante de la xantina oxidasa mediante **alopurinol**, al bloquear fácilmente el enzima de las células endoteliales en la isquemia/reperfusión hepática. Además, se ha comprobado que el alopurinol posee actividad antioxidante directamente²⁴. Otros antioxidantes interesantes son, por ejemplo, la hormona **melatonina**⁴³, que reacciona directamente con el radical hidroxilo y reduce el tamaño de los infartos, mimetizadores del enzima superóxido dismutasa como el **M-40401** o **metaphore**, que destruye el radical superóxido y es efectivo en la isquemia experimental de bazo de rata⁴⁴, etc.

Una posibilidad alternativa de tratamiento antioxidante consiste en la neutralización de los metales de transición responsables de la formación de radical hidroxilo a partir del peróxido de hidrógeno (reacción Fenton). El quelante de elección en este caso es la **desferoxamina** (el antídoto en la intoxicación por hierro), que quela el hierro intra y extracelularmente, evitando así la formación del potente radical en los procesos de reperfusión⁴⁵. La reacción con hierro origina un

complejo de hierro inerte, la ferrioxamina, impidiendo de este modo la interacción entre Fe^{2+} y H_2O_2 . Pero además, la desferoxamina actúa también directamente como un antioxidante, interaccionando con los radicales superóxido e hidroxilo.

En medicina humana se ha intentado, con éxito, evitar la agregación plaquetaria y neutrofílica mediante **abciximab**, un anticuerpo monoclonal dirigido frente a dos receptores plaquetarios, y que sólo se utiliza en angioplastia coronaria⁴⁶. Sin embargo, su elevado coste hace difícil su uso en medicina veterinaria. Una alternativa más económica es la utilización de **adenosina** para mimetizar un fenómeno conocido como "preacondicionamiento" o "preentrenamiento" isquémico agudo. Este fenómeno consiste en la exposición de los tejidos a periodos breves de isquemia, lo que les protege de los efectos perjudiciales de una isquemia posterior prolongada; de este modo la función de la microvasculatura se ve mucho menos alterada tras la reperfusión²³. La producción local de adenosina se estimula con la hipoxia, isquemia o inflamación, tanto en la luz de los vasos en donde es originada a partir de nucleótidos liberados por plaquetas y células endoteliales, como en el intersticio, a partir de células parenquimatosas isquémicas, terminaciones nerviosas y mastocitos⁴⁷. En el desarrollo de este mecanismo participan los receptores de adenosina que, vía proteína G, estimularían la fosfolipasa C, incrementando la concentración intracelular de diacilglicerol y, con ello, la activación de varias isoformas de proteinkinasa C. Estas kinasas acabarían fosforilando (activando) canales de potasio dependientes de ATP localizados en la membrana plasmática y mitocondrial que inhibirían la adhesión de neutrófilos y el incremento intracelular de calcio⁴¹. Otros efectos observados por la activación de receptores de adenosina incluyen menor producción de citokinas como el factor de necrosis tumoral ($\text{TNF-}\alpha$), mayor liberación de óxido nítrico, la inducción de superóxido dismutasa (enzima que destruye el radical superóxido), menor síntesis de ICAM-I y selectina-P, y menor secreción de citokinas proinflamatorias en monocitos^{39,48}. La adenosina se ha utilizado con éxito en la reperfusión del miocardio, pulmón, hígado y riñón, mimetizando los efectos del preacondicionamiento⁴⁹. Un inconveniente de la adenosina es que causa hipotensión y bradicardia, pero estos efectos han sido superados recientemente por el análogo CGS-21680 (Novartis).

Un tipo particular de preacondicionamiento hormonal es el realizado por el **péptido atrial natriurético** (ANP), como se ha comprobado al reducir el daño por reperfusión en hígado y riñón⁴¹. El ANP es producido por el corazón en situaciones de hipertensión, pero además de su actividad vasodilatadora, recientemente se han determinado efectos novedosos sobre el sistema inmune (macrófagos). No reduce la formación de oxidantes por parte de estas células, pero sí incrementa la resistencia de las células diana, todo ello mediante la activación de kinasas cGMP-dependientes y atenuación del incremento del calcio intracelular inducido por oxidantes. La activación de un mecanismo endógeno de resistencia de las células le hace ser un posible agente terapéutico frente a este tipo de daño.

En los últimos meses se han publicado unos trabajos muy

prometedores. Tres de ellos⁵⁰⁻⁵² han mostrado efectos protectores muy importantes de la **rosiglitazona**, el miembro más potente de las tiazolidinedionas utilizadas en la diabetes de tipo II, que actúan como ligandos del receptor activado por proliferadores de peroxisomas de tipo gamma (PPAR- γ). Los efectos protectores han sido sobre el miocardio (en isquemia experimental en rata) y el intestino (experimental en ratón y en un caso clínico humano). En el corazón la rosiglitazona consiguió reducir considerablemente el área lesionada por la reperfusión y mejorar el inotropismo, así como reducir la acumulación de neutrófilos y macrófagos, moléculas de adhesión, selectinas y citokinas, todo ello mediante cambios en la expresión génica de varias de las proteínas implicadas. En cuanto al aparato digestivo, además de controlar la inflamación del colon se ha visto también que el PPAR- γ reduce considerablemente el daño por isquemia/reperfusión, en este caso utilizando **pioglitazona**. La acción parece estar también mediada por cambios en la expresión génica, como inhibición de la activación de NF- κB , seguido de una disminución en la expresión de moléculas proinflamatorias (citokinas y moléculas de adhesión).

Un reciente trabajo de investigación ha conseguido reducir el daño por isquemia/reperfusión en hígado de rata mediante el uso de **inhibidores de metaloproteinasas de matriz**⁵³. Estas proteasas (gelatinasa, colagenasa, estromelisin, etc.) participan en los procesos inflamatorios degradando la matriz extracelular, y se ha comprobado que, además, son inducidas durante el proceso de isquemia/reperfusión. El daño hepático por isquemia/reperfusión fue esta vez considerablemente reducido mediante el uso de un nuevo inhibidor fosfínico de estas proteasas, el **RXPO3**, que se administró previamente a la isquemia experimental.

Finalmente, son también interesantes los resultados de la protección frente a isquemia-reperfusión mediante inhibidores de los intercambiadores de Na^+/H^+ , de membrana celular y mitocondrial. Estos intercambiadores se activan durante la isquemia por el descenso del pH intracelular, de modo que eliminan protones a la vez que introducen iones sodio. Como la acidosis celular también provoca una inhibición en la Na^+/K^+ -ATPasa, todo ello provoca un incremento en la concentración intracelular de sodio, y la activación del intercambiador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, lo que a su vez generará un aumento de la concentración de calcio. Se han utilizado con cierto éxito en isquemias cardíacas varios inhibidores de estos intercambiadores de sodio e hidrógeno, como el **cariporide** (Aventis), el **SM-20550** (Sumitomo) o el **nicorandil** (Chugai). Todos ellos han conseguido reducir el tamaño de los infartos, y el SM-20550 fue beneficioso incluso administrado en el periodo postisquémico⁵³.

En conclusión, varias posibilidades terapéuticas se han propuesto para reducir el daño por isquemia/reperfusión. Ninguna de ellas ha conseguido una eficacia absoluta, pero una combinación de ellas probablemente reduciría aún más el daño por reperfusión. El clínico veterinario es libre de utilizar cualquiera de los métodos descritos, pero en casos de torsión de estómago con insuficientes datos sobre la isquemia padecida, sería conveniente ceñirse a aquellos trata-

mientos de bajo riesgo, con probada efectividad y disponibilidad farmacéutica. La lógica empírica apuntaría a una combinación de terapia antioxidante (por ejemplo, glutathione o su precursor acetilcisteína, más tocoferol y/o alopurinol) acompañada de una quelación del hierro libre (desferoxamina) y una glitazona del tipo rosi- o pioglitazona. Bastante prometedor es también el tratamiento precondicionante con adenosina, y la anestesia con propofol, además de los inhibidores de los intercambiadores de Na^+/H^+ , pero a falta de datos clínicos claros, dejamos a la elección del veterinario

clínico su potencial uso. Obviamente, el uso de estos compuestos debe considerarse adicional al tratamiento de estabilización y control vital del animal, además de las maniobras necesarias para la corrección de la torsión gástrica y reducción de la dilatación. Por otra parte, los conceptos que hemos querido aclarar en esta revisión pueden extenderse a otros procesos isquémicos distintos de la torsión gástrica, aunque siempre con las precauciones necesarias teniendo en cuenta la ausencia de protocolos estandarizados de tratamiento.

Title

Pathophysiology of ischemia-reperfusion damage in gastric dilatation-volvulus syndrome

Summary

The restoration of blood flow in ischemic areas, also known as reperfusion, is a major responsible of the adverse consequences of ischemic injury. While the pathophysiological consequences of blood supply deprivation and metabolic acidosis have been appreciated for many years, recently it has become apparent that the oxidative stress induced by the blood flow restoration constitutes an additional damage that can limit the recovery of the ischemic organ. The oxidative stress in the ischemic tissue is defined as an imbalance between the oxygen radical production and the cell scavenging system, a condition that is present in the gastric dilatation-volvulus. In this situation, major changes in microvasculature take place, and the success of the physician intervention will depend on the attention to the restoration of the blood flow, as well as its ability to reduce the oxidative stress of the reperfusion. In this paper, we have outlined the recent knowledge on the pathophysiology and therapeutic of the reperfusion injury, to the better understanding by the pet veterinarian, and therefore to be useful in the general treatment of ischemic conditions, and the gastric dilatation-volvulus syndrome in particular.

Key words: Ischemia. Reperfusion. Radicals. Oxidative stress. Gastric dilatation-volvulus.

Bibliografía

1. Bloom, R.S.; Cropley, C.C.: Textbook of Neonatal Resuscitation, Am. Heart Assoc., Dallas, Texas, 1987, pp. 21-23.
2. Levine, R.L.: Ischemia: from acidosis to oxidation. *FASEB J.*, 7: 1242-1246, 1993.
3. Brockman, D.J.; Washabau, R.J.; Drobatz, K.J.: Canine gastric dilatation/volvulus syndrome in a veterinary critical care unit: 295 cases (1986-1992). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 207: 460-464, 1995.
4. Fox, S.M.: Crisis management: Dealing with the gastric dilatation-volvulus syndrome. *Veterinary Medicine*, Enero: 36-50, 1987.
5. Glickman, L.T.; Glickman, N.W.; Pérez, C.P.; Schellenberg, D.B.; Lantz, G.C.: Analysis of risk factors for gastric dilatation and dilatation-volvulus in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 204: 1465-1471, 1994.
6. Glickman, L.T.; Glickman, N.W.; Schellenberg, D.B.; Simpson, K.; Lantz, G.C.: Multiple risk factors for the gastric dilatation-volvulus syndrome in dogs: a practitioner/owner case-control study. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 33: 197-204, 1997.
7. Schellenberg, D.; Yi, Q.; Glickman, N.W.; Glickman, L.T.: Influence of thoracic conformation and genetics on the risk of the risk of gastric dilatation-volvulus in Irish setters. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 34: 64-73, 1998.
8. Burrows, C.F.; Ignaszewski, L.A.: Canine gastric dilatation-volvulus. *J. Small. Anim. Practice*, 31: 495-501, 1990.
9. Theyse, L.F.H.; Van de Brom, W.E.; Van Sluijs, F.J.: Small size of food particles and age as risk factors for gastric dilatation volvulus in great danes. *Vet. Record*, 143: 48-50, 1998.
10. Hall, J.A.; Willer, R.L.; Seim, H.B.; Powers, B.E.: Gross and histologic evaluation of hepatogastric ligaments in clinically normal dogs and dogs with gastric dilatation-volvulus. *Am. J. Vet. Res.*, 56: 1611-1614, 1995.
11. Baine III, J.C.; Fox, S.M.: Preventing the recurrence of gastric dilatation-volvulus. *Veterinary Medicine*, Enero: 51-58, 1987.
12. Wheaton, L.G.; Thacker, H.L.; Caldwell, S.: Intravenous fluorescein as an indicator of gastric viability in gastric dilation-volvulus. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 22: 197-204, 1986.
13. Millis, D.L.; Hauptman, J.O.; Fulton, R.B.: Abnormal hemostatic profiles and gastric necrosis in canine gastric dilatation-volvulus. *Vet. Surg.*, 22: 93-97, 1993.
14. Papp, E.; Drobatz, K.J.; Hughes, D.: Plasma lactate concentration as a predictor of gastric necrosis and survival among dogs with gastric dilatation-volvulus: 102 cases 1995-1998. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 215: 49-52, 1999.
15. Leib, M.S.; Martin, R.A.: Therapy of gastric dilatation-volvulus in dogs. *Compen. Small. Anim.*, 9: 1155-1163, 1987.
16. Davidson, J.R.: Acute gastric dilatation-volvulus in dogs: Surgical treatments. *Veterinary Medicine*, Febrero: 118-126, 1992.
17. Schertel, E.R.; Allen, D.A.; WW Muir, D.A.; Brouman, J.D.; DeHoff, W.D.: Evaluation of a hypertonic saline-dextran solution for treatment of dogs with shock induced by gastric dilatation-volvulus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 210: 226-230, 1997.

18. Viateau, V.: Le syndrome dilatation-torsion de l'estomac chez le chien, *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 169: 985-997, 1993.
19. Holm-Rutilli, L.; Perry, M.A.: Autoregulation of gastric blood flow and oxygen uptake, *Am. J. Physiol.*, 241: 143-149, 1981.
20. Guth, P.H.: Control of gastric mucosal blood flow, *Bibl. Anat.*, 16: 126-128, 1976.
21. Cheung, L.Y.: Gastric mucosal blood flow: Its measurement and importance in mucosal defense mechanisms, *J. Surg. Res.*, 36: 282-288, 1984.
22. Moody, F.G.: Cytoprotection of the gastric epithelium, *World. J. Surg.*, 5: 153-163, 1981.
23. Carden, D.L.; Granger, D.N.: Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury, *J. Pathology*, 190: 255-266, 2000.
24. Jaeschke, H.: Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 209: 104-111, 1995.
25. Yellon, D.M.; Baxter, G.F.: Reperfusion injury revisited: Is there a role for growth factor signaling in limiting lethal reperfusion injury?, *Trends Cardiovascular Med.*, 9: 245-249, 1999.
26. Granger, D.N.; Stones, K.Y.; Shigematsu, T.; Cerwinka, W.H.; Taylor, A.; Kriegstein, C.F.: Splanchnic ischaemia-reperfusion injury: mechanistic insights provided by mutant mice, *Acta. Physiol. Scand.*, 173: 83-91, 2001.
27. Kvietys, P.R.; Granger, D.N.: Endothelial cell monolayers as a tool for studying microvascular pathophysiology, *Am. J. Physiol.*, 273: 1189-1199, 1997.
28. Parvums, D.V.: The pathology of ischemia-reperfusion. En: Grace, P.A.; Methie, R.T. (Ed): *Ischemia-reperfusion Injury*, Blackwell Science, Londres, 1999, pp. 3-19.
29. Harrison, D.G.: Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction, *J. Clin. Invest.*, 100: 2153-2157, 1997.
30. Harris, N.R.; Granger, D.N.: Neutrophil enhancement of reperfusion-induced capillary fluid filtration associated with hypercholesterolemia, *Am. J. Physiol.*, 271: 1755-1761, 1996.
31. Ichikawa, H.; Flores, S.; Kvietys, P.R. et al.: Molecular mechanisms of anoxia/reoxygenation-induced neutrophil adherence to cultured endothelial cells, *Cir. Res.*, 81: 922-931, 1997.
32. Granger, D.N.: Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence risk factors for cardiovascular disease, *Microcirculation*, 6: 167-178, 1999.
33. Ondiveeran, H.K.; Fox-Robichaud, A.: New developments in the treatment of ischemia/reperfusion injury, *Current Op. Invest. Drugs*, 2: 783-791, 2001.
34. Rice-Evans, C.A.: Formation of free radicals and mechanisms of action in normal biochemical processes and pathological states. En: Rice-Evans, C.A.; Burdon, R.H. (Ed): *Free Radical Damage and its Control*, Elsevier, Amsterdam, 1994, pp. 131-153.
35. Beckman, K.B.; Ames, B.N.: The free radical theory of aging matures, *Physiol. Rev.*, 78: 547-581, 1998.
36. Dröge, W.: Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiol. Rev.*, 82: 47-95, 2001.
37. Maxwell, S.R.J.: Prospects for the use of antioxidant therapies, *Drugs*, 49: 345-3361, 1995.
38. Grisham, M.B.; Granger, D.N.; Lefer, D.L.: Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease, *Free. Rad. Biol.*, 25: 404-433, 1998.
39. Laroux, F.S.; Pavlick, K.P.; Hines, I.N. et al.: Role of nitric oxide in inflammation, *Acta Physiol. Scand.*, 173: 113-118, 2001.
40. Kalyanaraman, B.; Konorev, E.A.; Joseph, J.; Baker, J.E.: Radical generation and detection in myocardial injury. En: Rice-Evans, C.A.; Burdon, R.H. (ed): *Free Radical Damage and its Control*, Elsevier, Amsterdam, 1994, pp. 333-359.
41. Bilzer, M.; Gerbes, A.L.: Preservation injury of the liver: mechanisms and novel therapeutic strategies, *J. Hepatol.*, 32: 508-515, 2000.
42. Javadov, S.A.; Lim, K.H.; Kerr, P.M.; Suleiman, M.S.; Angelini, G.D.; Halestrap, A.P.: Protection of hearts from reperfusion injury by propofol is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition, *Cardiovasc. Res.*, 45: 360-369, 2000.
43. Lagneux, C.; Joyeux, M.; Demenge, P.; Ribout, C.; Godin-Ribout, D.: Protective effects of melatonin against ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart, *Life Sci.*, 66: 503-509, 2000.
44. Cuzzocrea, S.; Mazzon, E.; Dugo, L. et al.: Protective effects of a new stable, highly active SOD mimetic, M40401 in splanchnic artery occlusion and reperfusion, *Br. J. Pharmacol.*, 132: 19-29, 2001.
45. Singh, S.; Hider, R.C.: Therapeutic iron-chelating agents. En: Rice-Evans, C.A.; Burdon, R.H. (ed): *Free Radical Damage and its Control*, Elsevier, Amsterdam, 1994: 189-216.
46. Davies, C.H.: Revascularization for cardiogenic shock, *Q. J. Med.*, 94: 57-67, 1998.
47. Linden, J.: Molecular approach to adenosine receptors: Receptor-mediated mechanisms of tissue protection, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 41: 775-787, 2001.
48. Lentsch, A.B.; Kato, A.; Yoshidome, H.; McMasters, K.M.; Edwards, M.J.: Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury, *Hepatology*, 32: 169-173, 2000.
49. Serracino-Inglott, F.; Mathie, R.T.: Nitric oxide and hepatic ischemia-reperfusion injury, *Hepato-Gastroenterology*, 47: 1722-1725, 2000.
50. Matsushashi, N.; Watanabe, K.; Kanamori, H.; Ohnishi, S.; Omata, M.: PPAR γ agonists for intestinal ischemia, *Lancet*, 358: 75-76, 2001.
51. Nakajima, A.; Wada, K.; Miki, H.: Endogenous PPAR γ mediates antiinflammatory activity in a model of ischemia-reperfusion injury, *Gastroenterology*, 120: 460-469, 2001.
52. Yue, T.; Chen, J.; Bao, W.: In vivo myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by the peroxisome proliferator-activated receptor α agonist rosiglitazone, *Circulation*, 104: 2588-2594, 2001.
53. Cursio, R.; Mari, B.; Louis, K.: Rat liver injury after normothermic ischemia is prevented by a phosphinic matrix metalloproteinase inhibitor, *FASEB J.* (Noviembre 14, 2001) 10.1096/fj.01-0279je.